# CONFOCAL LASERMICROSCOPE

Patent number:

JP2001117013

**Publication date:** 

2001-04-27

Inventor:

YASUDA MAMORU; SASAKI HIROSHI; SHIMADA

YOSHIHIRO

Applicant:

**OLYMPUS OPTICAL CO** 

Classification:

- international:

G02B21/18

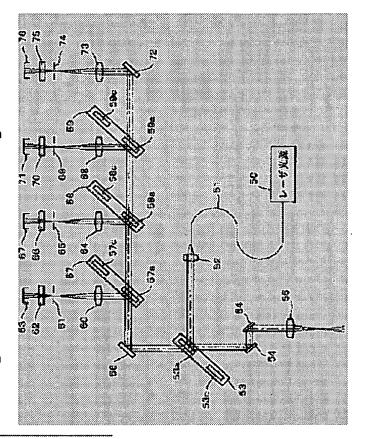
- european:

Application number: JP19990298253 19991020 Priority number(s): JP19990298253 19991020

Report a data error here

#### Abstract of JP2001117013

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a confocal laser microscope capable of restraining the fluctuation of detection sensitivity by a photodetector, obtaining an optimum confocal effect and acquiring an excellent optical image. SOLUTION: On the transmitted light optical path of an exciting beam splitter 53 having wavelength characteristic that it reflects a laser beam from a laser beam source 50 to a sample side and transmits light from the sample and arranged on the optical path of the laser beam, spectral beam splitter units 57 to 59 are arranged, which hold plural spectral beam splitters respectively having different spectral wavelength, are constituted so that one of the spectral beam splitters may be arranged on the transmitted light optical path of the beam splitter 53, and split the light transmitted through the beam splitter 53 by every wavelength. Then, the photodetectors 63 (67 and 71) are arranged through a confocal lens 60 (64 and 68) and a confocal pinhole 61 (65 and 69) on the spectral optical path by the spectral beam splitters of the units 57 to 59 on the transmitted light optical path of the beam splitter 53.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

#### (19) 日本国特許庁 (JP)

# (12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号 特開2001-117013 (P2001-117013A)

(43)公開日 平成13年4月27日(2001.4.27)

(51) Int.CL'	識別記号	F I	テーマコード(参考)
G02B 21/18		G 0 2 B 21/18	2G043
G01N 21/64		G01N 21/64	E 2H052
G02B 21/00		G 0 2 B 21/00	

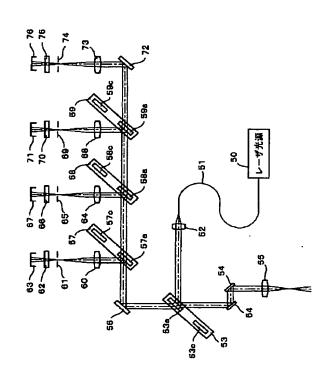
		<b>永髓查審</b>	未請求 請求項の数3 OL (全 8 頁)
(21)出願番号	特願平11-298253	(71) 出願人	000000376
			オリンパス光学工業株式会社
(22)出顧日	平成11年10月20日(1999.10.20)		東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号
		(72)発明者	安田 守
			東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリ
			ンパス光学工業株式会社内
		(72)発明者	佐々木 浩
			東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリ
			ンパス光学工業株式会社内
		(74)代理人	100058479
			弁理士 鈴江 武彦 (外4名)
			最終頁に続く

# (54) 【発明の名称】 共焦点レーザ顕微鏡

# (57)【要約】

【課題】光検出器での検出感度の変動を抑制できるとと もに、最適な共焦点効果が得られ、良好な光像を取得で きる共焦点レーザ顕微鏡を提供する。

【解決手段】レーザ光源50からのレーザ光を標本側に 反射し標本からの光を透過する波長特性を有し、レーザ 光の光路上に配置された励起ビームスプリッタ53の透 過光路上に、それぞれ異なる分光波長を持った複数の分 光ビームスプリッタを保持し、該分光ビームスプリッタ のうちの1つを前記励起ビームスプリッタ53の透過光 路上に配置し、励起ビームスプリッタ53を透過された 光を波長別に分離する分光ビームスプリッタユニット5 7~59を配置し、励起ビームスプリッタ53の透過光 路上の分光ビームスプリッタユニット57~59の分光 ビームスプリッタによる各分光光路上に共焦点レンズ6 0 (64、68)、共焦点ピンホール61 (65、6 9) を介して光検出器 63 (67、71) を配置する。



#### 【特許請求の範囲】

【請求項1】 レーザ光源からのレーザ光を標本側に反 射するとともに、前記標本からの光を透過する波長特性 を有し、前記レーザ光の光路上に配置された励起ビーム スプリッタと、

前記励起ビームスプリッタの透過光路上に少なくとも2 組配置され、且つそれぞれ異なる分光波長を持った複数 の分光ビームスプリッタを保持し、該分光ビームスプリ ッタのうちの1つを前記励起ビームスプリッタの透過光 路上に配置し、該励起ビームスプリッタを透過された光 10 を波長別に分離する分光ビームスプリッタユニットと、 前記励起ビームスプリッタの透過光路上に配置された分 光ビームスプリッタユニットの分光ビームスプリッタに よる各分光光路上に共焦点レンズ、共焦点ピンホールを 介して配置した少なくとも3個の光検出器とを具備し、 前記励起ビームスプリッタユニットと前記光検出器との 間の前記分光ビームスプリッタユニットでの反射回数を 1回以内にしたことを特徴とする共焦点レーザ顕微鏡。

【請求項2】 前記励起ビームスプリッタユニットの透 過光路上で該励起ビームスプリッタユニットから最も離 20 れた分光ビームスプリッタについては反射光路および透 過光路にそれぞれ共焦点レンズ、共焦点ピンホールを介 して光検出器が配置されることを特徴とする請求項1記 載の共焦点レーザ顕微鏡。

【請求項3】 前記光検出器ごとの共焦点ピンホール は、前記分光ビームスプリッタにより分離された各波長 の光のスポット径に合わせて開口調整を可能にしたこと を特徴とする請求項1記載の共焦点レーザ顕微鏡。

## 【発明の詳細な説明】

## [0001]

【発明の属する技術分野】本発明は、レーザ光で標本の 焦点面を走査したときの標本からの光、特に蛍光を波長 別に分離して複数の光検出器で検出する共焦点レーザ顕 微鏡に関するものである。

#### [0002]

【従来の技術】共焦点レーザ顕微鏡は、レーザ光を対物 レンズにより集光して標本上(焦点面)にスポット光と して照射するとともに、このスポット光を走査手段によ り標本上で2次元走査させ、標本からの光を共焦点ピン ホールを通して光検出器により検出するようにしたもの 40 である。

【0003】そして、このような共焦点レーザ顕微鏡に は、レーザ光で標本の焦点面を走査したときの標本から の光、特に蛍光を波長別に分離して複数の光検出器で検 出するようにしたものが考えられており、例えば、特開 平8-271792号公報に開示されるように使用する レーザ波長や多様な蛍光色素に対応するためにレーザ光 と標本からの光を分離するビームスプリッタを複数備え たものが知られている。図6は、このような考えを採用 したものの一例を示すもので、レーザ光源1から出力さ 50 に集光されるとともに、走査される。また、レーザ光に

れたレーザ光は、ファイバ3からレンズ4に導入され、 ピンホール5を通過した後、次のビームスプリッタ6よ りレンズ7側に偏向され、XYスキャンニングミラー8 によりXY方向に偏向される。そして、このXYスキャ ンニングミラー8を通過したレーザ光は、レンズ9およ び対物レンズ10を通過して図示しないプレパラート上 の標本の焦点面に集光される。また、レーザ光によりプ レパラートから発せられた蛍光または反射光は、対物レ ンズ10、レンズ9、XYスキャンニングミラー8、レ ンズ7を通過してビームスプリッタ6に達する。この場 合、プレパラートから発せられた蛍光は、レーザ光と波 長が異なるので、ビームスプリッタ6を通過し、開口の 大きさが調整可能な可変共焦点ピンホール11を通過 し、異なるスペクトラム通過特性のビームスプリッタ1 2、13を介して3つの光路に分割される。そして、こ のうちのビームスプリッタ12で分割された光路では、 バリアフィルタ15を介してフォトマルチプライヤ18 により検出されて電気信号に変換される。ビームスプリ ッタ12を透過した光は、ビームスブリッタ13で分割 され、分割された光路は、バリアフィルタ16を介して フォトマルチプライヤ19により検出されて電気信号に 変換される。ビームスプリッタ13を透過した光は、反 射ミラー14で偏向され、偏向された光路は、バリアフ ィルタ17を介してフォトマルルチプライヤ20により 検出され電気信号に変換される。このように3つの異な る波長の蛍光分析を可能にしている。

【0004】一方、特開平6-167654号公報や特 開平11-231222号公報に開示されるように検出 する光を波長ごとに分離し、これら波長ごとにそれぞれ 共焦点ピンホールおよび光検出器を設けるようにしたも のもある。これら共焦点レーザ顕微鏡では、ビームスプ リッタを変換したときに角度がずれると、共焦点ピンホ ール面での結像位置も変化するので、この共焦点ピンホ ールの位置を動かして補正するようにしている。

【0005】図7は、特開平6-167654号公報に 開示された倒立型走査型レーザ顕微鏡の概略構成を示す もので、3つの標準ブロック21~23および任意の数 の付加的レーザモジュール24、25からなっている。 ここで標準ブロック21は、顕微鏡鏡基、標準ブロック 22は、スキャンモジュール、標準プロック23は、レ ーザ光源26を備えた検出器モジュールである。

【0006】そして、レーザ光源26から発せられたレ ーザ光は、シャッター27を介してビームスプリッタ2 8で偏向され、ビームエキスパンダ29、30を通し て、さらにビームスプリッタ31で偏向され、XYスキ ャニングミラー32によりXY方向に走査される。そし て、このXYスキャニングミラー32で走査されたレー ザ光は、全反射ミラー34により偏向され、対物レンズ 35を通って図示しないプレパラート上の標本の焦点面

が一個のみの構成では、複数波長の蛍光を同時に取得し ても、それぞれの焦点が一致しない画像になってしまう

という問題点があった。

【0008】一方、図7に示す構成のものは、各検出器 ごとに共焦点結像レンズと共焦点ピンホールを設けるよ うにしているが、光路上で各ビームスプリッタ36、3 7を異なる特性のものに交換すると、図示しないターレ ットなどへの装着誤差により反射する光軸の角度が変化 し共焦点結像レンズ39、40による結像位置も変動す る。特に、共焦点結像レンズ40、41については、ビ ームスプリッタ36、37の2回の反射を経由するた め、結像位置の変動はかなり大きなものとなる。

【0009】この場合、光軸角度のずれに対しては、共 焦点ピンホールの芯合わせを行なうようにするが、光検 出器45~47に入射する光路は変化してしまうため、 各共焦点ピンホール42~44の芯合わせを行なったに もかかわらず、光検出器45~47の光電面上に入射す る光の位置が大きく変化してしまう。通常、光検出器4 5~47には、光が光電面に当たると内部に光電子が放 出され、これを増倍して信号を出力する高感度の光電子 増倍管が用いられるが、かかる光電子増倍管は、光電面 での感度は均一でない。つまり、このような光電子増倍 管を用いた光検出器45~47の光電面45a~47a での受光位置と感度の相関関係は、図8に示す一例のよ うになり、放出した光電子が増倍過程で損失してしまう 領域が存在する。このため、各ビームスプリッタ31、 36、37を切換えた際に、その反射面の角度がずれて 光検出器45~47の光電面45a~47aに入射する 光の位置が移動すると、検出感度が変化してしまうとい う問題があった。

【0010】また、共焦点ピンホールに至るまでの光路 において、ビームスプリッタでの反射回数が2回以上と 多くなると、ピンホールの芯合わせに必要な移動距離も 大きくなり、芯出し機構が大型化するため、各検出器ご とに共焦点ピンホールを設けている多チャンネルのもの では、スキャンモジュール全体の小型化に支障をきたす 原因にもなっていた。

【0011】本発明は上記事情に鑑みてなされたもの で、光検出器での検出感度の変動を抑制できるととも に、最適な共焦点効果が得られ、良好な光像を取得でき る共焦点レーザ顕微鏡を提供することを目的とする。 [0012]

【課題を解決するための手段】請求項1記載の発明は、 レーザ光源からのレーザ光を標本側に反射するととも に、前記標本からの光を透過する波長特性を有し、前記 レーザ光の光路上に配置された励起ビームスプリッタ と、前記励起ビームスプリッタの透過光路上に少なくと も2組配置され、且つそれぞれ異なる分光波長を持った 複数の分光ビームスプリッタを保持し、該分光ビームス

よりプレパラートから発せられた蛍光または反射光は、 対物レンズ35、全反射ミラー34、XYスキャニング ミラー32を通過してビームスプリッタ31に達する。 この場合、プレパラートから発せられた蛍光は、レーザ 光と波長が異なるので、ビームスプリッタ31を透過 し、異なるスペクトラム透過特性を有する2つのビーム スプリッタ36、37および全反射ミラー38を介して 3つの並列の共焦点検査チャンネルに供給される。これ ら共焦点検査チャンネルは、それぞれのチャンネルに対 応した共焦点結像レンズ39~41、これら共焦点結像 10 レンズ39~41に対応した共焦点ピンホール42~4 4およびレーザ光を電気信号に変換するための各チャン ネルに対応した光検出器45~47を有し、3つの異な る波長での蛍光分析を可能にしている。なお、ここでの 共焦点ピンホール42~44は、それぞれ芯合わせ、開 口の大きさの調整を独立して可能にしており、ビームス プリッタ36、37および全反射ミラー38を別のスペ クトル特性のものに交換したときには、それぞれ芯合わ せするようにしている。

## [0007]

【発明が解決しようとする課題】ところが、図6に示す 構成のものによると、検出する蛍光波長によって、可変 共焦点ピンホール11に結像するスポット径が異なるた め、最適な開口を実現するのが難しい。例えば、FIT CとCY5の蛍光を同時に取得したいような場合、スポ ット径のは光の波長んと集光するレンズの開口数NAで 決定され、その関係は、 ø=1. 221/NAで与えら れるので、FITCの蛍光ピーク波長530nm、CY 5の蛍光ピーク波長660nmで、集光するレンズのN Aを0.07とすると、FITCのスポット径が $92\mu$ 30 mになるのに対し、CY5のスポット径は115μmに なる。このため、可変共焦点ピンホール11の開口をF ITCのスポット径に最適な92μmに設定すると、F ITCの蛍光像は良好に得られるが、CY5のスポット 径は可変共焦点ピンホール11の開口径より大きいた め、通過光量が減少してしまい最適な蛍光像が得られ ず、逆に、可変共焦点ピンホール11の開口をCY5の スポット径に最適な115μmに設定すると、CY5の 蛍光像は良好に得られるが、FITCでは共焦点効果が 薄れて、解像が劣化してしまう。つまり、複数の蛍光を 40 同時に取得しようとしても、最適な蛍光像を検出するこ とが不可能になるという問題があった。また、可変共焦 点ピンホール11に蛍光を投射するレンズ7、レンズ9 および対物レンズ10の光学系に焦点方向の色収差があ ると、蛍光の波長により焦点位置が異なるようになるた め、この種の共焦点レーザ顕微鏡のようにUVからIR までの広い波長範囲において、同時に観察できることが 要求されて、これら波長域をカバーするレーザ光で励起 されたすべての蛍光波長で色収差のない光学系を実現す ることは困難である。以上のことから共焦点ピンホール 50 プリッタのうちの1つを前記励起ビームスプリッタの透

20

20

過光路上に配置し、該励起ビームスプリッタを透過され た光を波長別に分離する分光ビームスプリッタユニット と、前記励起ビームスプリッタの透過光路上に配置され た分光ビームスプリッタユニットの分光ビームスプリッ タによる各分光光路上に共焦点レンズ、共焦点ピンホー ルを介して配置した少なくとも3個の光検出器とを具備 し、前記励起ビームスプリッタユニットと前記光検出器 との間の前記分光ビームスプリッタユニットでの反射回 数を1回以内にしたことを特徴としている。

【0013】請求項2記載の発明は、請求項1記載の発 10 明において、前記励起ビームスプリッタユニットの透過 光路上で該励起ビームスプリッタユニットから最も離れ た分光ビームスプリッタについては反射光路および透過 光路にそれぞれ共焦点レンズ、共焦点ピンホールを介し て光検出器が配置されることを特徴としている。

【0014】請求項3記載の発明は、請求項1記載の発 明において、前記光検出器ごとの共焦点ピンホールは、 前記分光ビームスプリッタにより分離された各波長の光 のスポット径に合わせて開口調整を可能にしたことを特 徴としている。

【0015】この結果、請求項1記載の発明によれば、 光検出器に入射される光の位置ずれの原因である、分光 ビームスプリッタユニットでの反射回数を全て1回以内 にできるので、分光ビームスプリッタの切換えにも、光 検出器での検出感度の変動を抑制することができる。

【0016】請求項2記載の発明によれば、励起ビーム スプリッタユニットの透過光路上で該励起ビームスプリ ッタユニットから最も離れた分光ビームスプリッタにつ いては分光ビームスプリッタユニットの反射回数を0回 にできるので、さらに検出感度の変動を抑制することが 30 できる。

【0017】請求項3記載の発明によれば、最適な共焦 点効果により、良好な光像を取得することができる。

【発明の実施の形態】以下、本発明の一実施の形態を図 面を用いて説明する。

【0019】図1は、本発明が適用される共焦点レーザ 型顕微鏡の概略構成を示している。図において、50は レーザ光源で、このレーザ光源50は、複数の波長のレ ーザ光を出力するものである。また、レーザ光源50の 40 レーザ出射端には、シングルモードファイバ51が接続 され、このシングルモードファイバ51の出射口には、 コリメートレンズ52が接続されている。このコリメー トレンズ52は、シングルモードファイバ51から出射 された照明光を適切な大きさの径の平行光に整形するも のである。

【0020】コリメートレンズ52からのレーザ光の光 路上には、励起用ビームスプリッタユニット53が配置 されている。この励起用ビームスプリッタユニット53 射、透過の波長特性の異なる複数の励起用ビームスプリ ッタ53a~53dが配置されている。図示例では、励 起用ビームスプリッタ53aが光路上に配置されてい

【0021】そして、励起用ビームスプリッタ53aの 反射光路上にはXYスキャニングミラー54が配置され ている。XYスキャニングミラー54は、励起用ビーム スプリッタ53aで反射されたレーザ光をXY方向に走 査するものである。

【0022】そして、XYスキャニングミラー54によ り変更されるレーザ光は、瞳投影レンズ55を透過し、 さらに図示しない顕微鏡の結像レンズ、対物レンズを透 過して標本上にスポットとして結ばれ、このスポットが プレパラートの標本上を2次元走査するようにしてい

【0023】一方、標本からの光、ここでは蛍光は、対 物レンズ、結像レンズを透過し、さらに瞳投影レンズ5 5、XYスキャニングミラー54を介して、励起用ビー ムスプリッタ53aに達する。この場合、プレパレート から発せられた蛍光は、レーザ光と波長が異なるので、 励起用ビームスプリッタ53aを透過する。

【0024】励起用ビームスプリッタ53aの透過光路 上には、ミラー56が配置され、このミラー56の反射 光路上には、分光用ビームスプリッタ(以下、分光用フ ィルタユニットと称する) 57、58、59が配置され ている。ここで、分光用フィルタユニット57は、図3 に示すようにターレット571の同心円上に1チャンネ ル用の分光波長の異なる分光用フィルタ57a~57c および1チャンネルでは蛍光を検出しないで後続の2、 3、4チャンネル側に蛍光を透過させる光路補正ガラス 57 dが配置されている。 図示例では、 分光用フィルタ 57aが光路上に配置されている。また、分光用フィル タユニット58は、図4に示すようにターレット581 の同心円上に2チャンネル用の分光波長の異なる分光用 フィルタ58a~58cおよび2チャンネルでは蛍光を 検出しないで後続の3、4チャンネル側に蛍光を透過さ せる光路補正ガラス58 dが配置されている。図示例で は、分光用フィルタ58aが光路上に配置されている。 さらに、分光用フィルタユニット59は、図5に示すよ うにターレット591の同心円上に3チャンネル用の分 光波長の異なる分光用フィルタ59a~59cおよび3 チャンネルでは蛍光を検出しないで後続の4チャンネル 側に蛍光を透過させる光路補正ガラス59 dが配置され ている。図示例では、分光用フィルタ59aが光路上に 配置されている。

【0025】そして、分光用フィルタ57aの1チャン ネル用の反射光路上には、共焦点レンズ60、共焦点ピ ンホール61、レーザ反射光をカットするバリアフィル タ62および1チャンネル用の光検出器63が配置され は、図2に示すようにターレット531の同心円上に反 50 ている。また、分光用フィルタ58aの2チャンネル用



の反射光路上には、共焦点レンズ64、共焦点ピンホール65、レーザ反射光をカットするバリアフィルタ66 および2チャンネル用の光検出器67が配置されている。さらに、分光用フィルタ59aの3チャンネル用の反射光路上には、共焦点レンズ68、共焦点ピンホール69、レーザ反射光をカットするバリアフィルタ70および3チャンネル用の光検出器71が配置されている。そして、分光用フィルタ59aを透過した4チャンネル用の透過光路上には、反射ミラー72、共焦点レンズ73、共焦点ピンホール74、レーザ反射光をカットする10バリアフィルタ75および4チャンネル用の光検出器76が配置されている。

【0026】この場合、1~4チャンネルは、波長の短い順になっており、反射ミラー56で反射された蛍光は、各分光用フィルタ57a、58a、59aにより1~3チャンネル用の光路に導かれ、さらに反射ミラー72により4チャンネル用の光路に導かれるようになっている。

【0027】そして、分光用フィルタ57aで反射され た波長の蛍光は、共焦点レンズ60を介して共焦点ピン 20 ホール61上で結像され、バリアフィルタ62を透過し て1チャンネル用の光検出器63で検出される。分光用 フィルタ57aを透過して分光用フィルタ58aで反射 された波長の蛍光は、共焦点レンズ64を介して共焦点 ピンホール65上で結像される。バリアフィルタ66を 透過して2チャンネル用の光検出器67で検出され、さ らに、分光用フィルタ57a、58aを透過して分光用 フィルタ59aで反射された波長の蛍光は、共焦点レン ズ68を介して共焦点ピンホール69上で結像され、バ リアフィルタ70を透過して3チャンネル用の光検出器 30 71で検出される。さらに、分光用フィルタ57a、5 8a、59aを透過して反射ミラー72で反射された波 長の蛍光は、共焦点レンズ73を介して共焦点ピンホー ル74上で結像され、バリアフィルタ75を透過して4 チャンネル用の光検出器76で検出される。

【0028】つまり、このように構成することで、励起 用ビームスプリッタ53aから各光検出器63、67、 71、76に至るまでの光路の間で、分光用フィルタユニット57、58、59での反射回数を、1、2、3チャンネルでは1回、4チャンネルでは0回と、いずれも 40 1回以下としている。

【0029】次に、以上のように構成した実施の形態の作用を説明する。

【0030】まず、アプリケーションに応じて励起用ビームスプリッタユニット53に装着された励起用ビームスプリッタ53a~53dのうちの必要なもの、および分光用フィルタユニット57、58、59にそれぞれ装着した分光用フィルタ57a~57c、58a~58c、59a~59cのうちの必要なものを光路上に挿入する。

【0031】この場合、励起用ビームスプリッタユニット53の各局起用ビームスプリッタ53a~53dおよび分光用フィルタユニット57、58、59の各分光用フィルタ57a~57c、58a~58c、59a~59cの反射面を全て同一角度に取付けることは極めて困難であり、これら励起用ビームスプリッタユニット53および分光用フィルタユニット57、58、59の光路上での切換えに伴い反射する光軸の角度は変化し、各共焦点レンズ60、64、68、73で結像する位置の変動は避けられない。

【0032】そこで、これら励起用ビームスプリッタユ ニット53および分光用フィルタユニット57、58、 59での切換えに伴い、各共焦点ピンホール61、6 5、69、74の開口中心を結像位置まで移動させる調 整が必要となるが、この場合、反射ミラー56で反射し た蛍光は、各分光用フィルタユニット57、58、59 により波長の短い順に分けられ、各共焦点レンズ60、 64、68、73は、分けられた蛍光の波長に合わせ て、それぞれの共焦点ピンホール61、65、69、7 4に結像するので、焦点方向の調整は不要になる。ま た、1~3チャンネルに入射する光軸が分光フィルタに より反射する回数は1回、4チャンネルについては、0 回であるので、各光検出器63、67、71、76へ入 射する光軸の角度変化も少ない。 そして、このような条 件の下で、共焦点ピンホール61、65、69、74の それぞれの開口径を通過する蛍光のスポット径に合わせ て最適に調整し、全ての共焦点ピンホール61、65、 69、74について、芯出し調整および開口調整が完了 した時点から、所定の観察を開始する。

【0033】従って、このようにすれば、光検出器6 3、67、71に入射する光の位置ずれ原因となる、分 光用フィルタユニット57の分光用フィルタ57a~5 7 c、分光用フィルタユニット58の分光用フィルタ5 8a~58cおよび分光用フィルタユニット59の分光 用フィルタ59a~59cでの反射回数を1回にできる とともに、このときの反射1回の角度差に抑えることが でき、また、光検出器76については、入射光の位置ず れの原因である分光用フィルタの反射回数を0回にでき る。さらに、励起用ビームスプリッタユニット53の励 起用ビームスプリッタ53a~53dと各分光用フィル タユニット57、58、59の分光用フィルタ57a~ 57c、58a~58c、59a~59cとの平行度は 3"程度に加工することが可能で、透過される光軸の角 度にほとんど影響しないようにできる。従って、光検出 器63、67、71、76として、図8で述べた光電子 増倍管を用いた場合にも、光検出器に入射する光軸の変 動を小さくできるので、検出感度の変動を少なく抑える ことができ、常に、精度の高い検出を行なうことができ

50 【0034】また、光軸の角度変化が少なく、共焦点レ

10

ンズ60、64、68、73による結像位置の変動も小さくできるので、共焦点ピンホール61、65、69、74の芯出し調整のための移動機構も小型化でき、スキャンモジュール全体の小型化も実現できる。

【0035】さらに、検出される蛍光は、分光用フィルタユニット57、58、59により波長の短い順に分けられ、共焦点レンズ60、64、68、73により、分けられた蛍光の波長に合わせて、それぞれの共焦点ピンホール61、65、69、74に結像するようにしているので、各共焦点ピンホール61、65、69、74は、各波長の蛍光のスポット径に合わせて開口調整が可能になり、それぞれ最適な共焦点効果により、最適な蛍光像を取得することができる。

【0036】なお、上述した実施の形態では、分光用フィルタで反射した光を検出するチャンネル数は、3個の場合を述べたが、2個、4個、5個と増設していっても同様な効果を得られる。また、4チャンネル目の反射ミラーを無くして分光用フィルタユニット39を透過した光を直接検出するようにしてもよい。さらに、励起用ビームスプリッタユニット53と分光用フィルタユニット2057、58、59は、ターレット方式により切換えたが、リニアガイドなどのスライド機構でもよい。さらにまた、光路補正ガラスを備えていなくて、全て分光フィルタである分光用フィルタユニットであっても効果に変わりはない。また、励起用ビームスプリッタユニット53を切換え式でなく1つの波長特性のものに固定してもよい。

# [0037]

【発明の効果】以上述べたように本発明によれば、ビームスプリッタの切換えにも光検出器での検出感度の変動 30 を抑制できるとともに、UVからIRにおける全ての波長域において最適な共焦点効果が得られ、良好な光像を取得できる共焦点レーザ顕微鏡を提供できる。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明の一実施の形態の概略構成を示す図。

【図2】一実施の形態に用いられる励起用ビームスプリッタユニットの概略構成を示す図。

【図3】 一実施の形態に用いられる分光用フィルタユニ\*

\*ットの概略構成を示す図。

【図4】一実施の形態に用いられる分光用フィルタユニットの概略構成を示す図。

【図5】一実施の形態に用いられる分光用フィルタユニットの概略構成を示す図。

【図6】従来の共焦点レーザ顕微鏡の一例の概略構成を 示す図。

【図7】従来の共焦点レーザ顕微鏡の他例の概略構成を 示す図。

10 【図8】従来の共焦点レーザ顕微鏡に用いられる光電子 倍像管の受光位置と感度の相関を示す図。

#### 【符号の説明】

50…レーザ光源

51…シングルモードファイバ

52…コリメートレンズ

53…励起用ビームスプリッタユニット

531…ターレット

53a~53d…励起用ビームスプリッタ

54…XYスキャニングミラー

55…瞳投影レンズ

56…反射ミラー

57…分光用フィルタユニット

571…ターレット

57a~57c…分光用フィルタ

57d…光路補正ガラス

58…分光用フィルタユニット

581…ターレット

58a~58c…分光用フィルタ

58d…光路補正ガラス

5 9…分光用フィルタユニット

591…ターレット

59a~59c…分光用フィルタ

59d…光路補正ガラス

60、64、68、73…共焦点レンズ

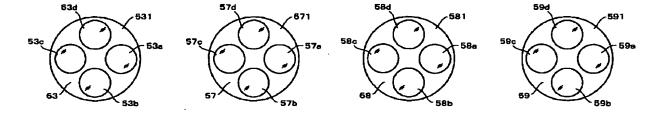
61、65、69、74…共焦点ピンホール

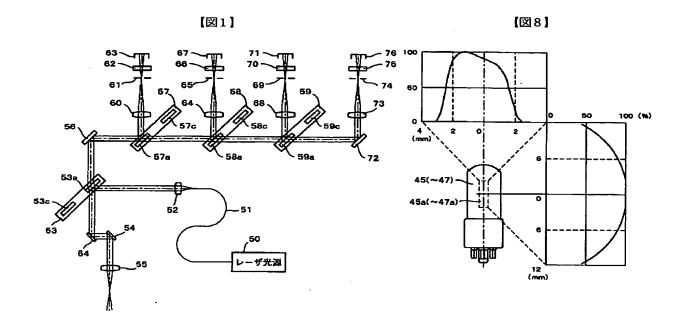
62、66、70、75…バリアフィルタ

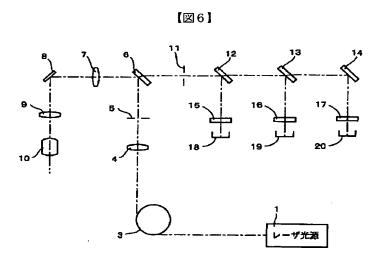
63、67、71、76…光検出器

72…反射ミラー

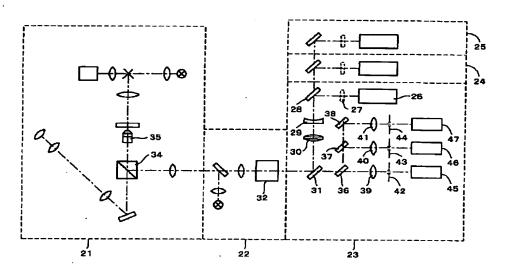
[図2] 【図3】 【図4】 【図5】







# 【図7】



フロントページの続き

(72)発明者 島田 佳弘 東京都渋谷区峰ヶ谷 2 丁目43番 2 号

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリンパス光学工業株式会社内

Fターム(参考) 2CO43 AAO3 EAO1 FAO1 FAO2 FAO6

GA02 GA04 GA06 GB18 HA01

HA02 HA09 JA02 KA01 KA02

KA03 KA09 LA02

2H052 AA08 AA09 AB24 AB30 AC04

AC14 AC15 AC34 AD34 AF06